

УДК 576.895.133:591.477.39

© 1990

**УЛЬТРАСТРУКТУРА ПОКРОВОВ И «ЖЕЛЕЗЫ ПРОНИКНОВЕНИЯ»
АКАНТОРОВ POLYMORPHUS MAGNUS (ACANTHOSERPHALA:
POLYMORPHIDAE)**

В. П. Никишин, Г. П. Краснощеков

Впервые описана ультраструктура покровов эмбриональной личинки скребня *Polymorphus magnus*. В передней части личинки выявлена зона скопления секреторных гранул, предположительно являющаяся «железой проникновения».

Ранее нами была изучена ультраструктура эмбриональных оболочек и «центральной ядерной массы» аканторов скребней *Polymorphus magnus* Skrjabin, 1913 (Никишин, Краснощеков, 1986; Никишин, 1988). В предлагаемом сообщении приводятся результаты электронно-микроскопического исследования покровов этих же личинок, а также впервые выявленной зоны образования и депонирования секрета, предположительно являющейся «железой проникновения».

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Живых самок *P. magnus*, полученных от естественно инвазированных гаг *Somateria fischeri*, фиксировали последовательно в 2%-ном растворе глutarового альдегида до 2 сут и в 2%-ном растворе тетраоксида осмия в течение 2—4 ч, обезживали в спиртах возрастающей концентрации и заключали в смесь эпон-аралдит. Фиксаторы и промывочные смеси готовили на фосфатном буфере (рН 7.4). Контрастирование осуществляли 1 %-ным раствором уранил-ацетата на 70 %-ном спирте в процессе обезживания и цитратом свинца на срезах. Исследование проводили в электронном микроскопе Tesla BS-500.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эмбриональные личинки скребней *P. magnus* имеют веретеновидную форму с волнистой поверхностью, на которой располагаются эмбриональные крючья и шипики (рис. 1). Тело личинки снаружи ограничено покровным комплексом, толщиной 30—40 нм. Он состоит из поверхностной мембраны, слоя плотного гомогенного материала, вплотную прилежащего к ее внутренней стороне, и мембраноподобной пластинки, отделенной от последнего узким светлым промежуточком. Под покровным комплексом располагается поверхностный слой цитоплазмы, имеющей синцитиальную организацию. На всей поверхности акантора в покровном комплексе выявляются немногочисленные узкие поры, переходящие в короткие каналцы, которые сообщаются с локализующимися в толще поверхностной цитоплазмы мелкими пузырьками со светлым содержимым.



Рис. 1. Схема строения акантора большого утиног скребня.

Г — секреторные гранулы; КМ — косые мышечные волокна; Л — капли липидов; НЯ — недифференцированные ядра; ПМ — продольные мышечные волокна; ФТ — фибриллярные тельца; СЯ — соматические ядра; Ш — шипики; ЭК — эмбриональные крючья.

Эмбриональные крючья располагаются вблизи переднего полюса акантора (рис. 2, б; см. вкл.). Длина их 0.6—0.8 мкм, форма — в виде конуса, изогнутого к заднему концу личинки, возможно, не окончательно сформированной вершиной. Они состоят из проксимального и дистального отделов, разделенных щелевидным светлым промежутком. Проксимальный отдел крючьев образован аморфным материалом умеренной электронной плотности; дистальный на срезе выглядит как серповидная полоска электронноплотного материала, покрывающего основание крючка. Остальная поверхность личинки покрыта регулярно расположенными шипиками, длиной 1.0—1.2 мкм, которые в отличие от эмбриональных крючьев имеют более тонкую и длинную дистальную часть (рис. 3, а; см. вкл.). Структура этой части шипиков не выявляется из-за высокой плотности образующего ее материала. Проксимальные отделы шипиков представляют собой короткие выросты поверхностной цитоплазмы акантора; отложений аморфного вещества, как в крючьях, в них не наблюдается. По внешнему виду шипики представляются вполне оформленными. Снаружи крючья и шипики покрыты покровным комплексом, переходящим на поверхность тела личинки.

Поверхностный слой цитоплазмы исследованных личинок изнутри ограничен цитоплазматической мембраной и пучками продольных мышечных волокон. Однако имеются протяженные участки, где внутренняя цитоплазматическая мембрана не прослеживается, и поверхностный синцитиальный слой непосредственно связан с глубже расположенной цитоплазмой (рис. 2, б; 3, б). Для этого слоя характерно наличие рибосом, небольших скоплений коротких канальцев гранулярной эндоплазматической сети (ГЭС), единичных митохондрий, а также светлых пузырьков, более многочисленных в переднем полюсе личинки и связанных короткими канальцами с порами покровного комплекса. Какие-либо включения, содержащие электронноплотный материал, аналогичный образующему дистальные отделы вооружения, в поверхностном слое цитоплазмы не обнаружены. Базальная пластинка, как и иные неклеточные элементы, не найдена.

С учетом особенностей внутреннего строения тело личинки можно условно разделить на переднюю, среднюю и заднюю трети. Большую часть переднего отдела акантора занимает скопление секреторных гранул, располагающееся глубже слоя продольных мышечных волокон (рис. 2, а). В области переднего полюса, где мышечные волокна отсутствуют, скопление секреторных гранул отделено от поверхностного синцитиального слоя прерывистой цитоплазматической мембраной или ее крупными фрагментами (рис. 2, б). Максимальные размеры секреторных гранул — 0.8—1.0×0.5—0.7 мкм. Форма их преимущественно округлая или овоидная в сечении, но имеются и удлинённые неправильной формы. В переднем и центральном участках скопления гранулы настолько близко прилежат друг к другу, что форма их становится угловатой, полигональной, однако признаки их слияния не выявляются. Гранулы ограничены мембраной, большинство их заполнено однородным электронноплотным материалом.

В некоторых гранулах выявляются различной величины и формы участки со светлым зернистым содержимым (рис. 2, б). В окружающей гранулы цитоплазме выявляются немногочисленные мелкие митохондрии и скопления рибосом, клеточные ядра не обнаруживаются. В основании и по боковой поверхности секреторного скопления вмещающая гранулы цитоплазма отделена от прилежащей синцитиальной массы акантора крупными фрагментами цитоплазматических мембран. Однако проследить клеточные границы на всем их протяжении не удастся. Можно лишь предполагать, что секреторная зона акантора является самостоятельной клеточной или синцитиальной структурой.

Расположенный позади скопления секреторных гранул участок акантора, исключая «центральную ядерную массу», характеризуется наличием ядер соматического типа с мелкими скоплениями гетерохроматина, отсутствием четких клеточных границ и обилием органелл и включений в цитоплазме (рис. 3 а, б). Здесь имеются многочисленные митохондрии нередко с признаками деструкции: локальным разрушением крист, разрежением матрикса, включением ламеллярных телец и мелких плотных гранул. Помимо митохондрий, в цитоплазме также выявляются рибосомы, короткие канальцы ГЭС и зоны Гольджи в виде скоплений мелких светлых пузырьков и коротких цистерн. Вблизи зон Гольджи располагаются группы мелких секреторных гранул, по-видимому, транспортируемых по мере формирования в передний отдел личинки. Из включений в среднем отделе личинки наблюдаются немногочисленные ламеллярные тельца и ограниченные мембранами скопления концентрических канальцев ГЭС (рис. 2, б, стрелка), наличие которых свидетельствует о процессах аутофагии (Bogitsh, 1975). Кроме того, встречаются образования в виде плотно упакованных мелких пузырьков, заключенных в электронноплотный матрикс и окруженных мембраной (рис. 3, а, стрелка). Передний и средний отделы акантора содержат толстые пучки мышечных волокон, идущих от переднего полюса акантора к его покровам на границе средней и задней третей тела. В средней части исследованных личинок располагается «центральная ядерная масса», образованная фибриллярными тельцами и недифференцированными ядрами (Никишин, Краснощеков, 1986). Цитоплазма задней части аканторов включает соматические ядра, митохондрии, элементы ГЭС и одиночные крупные капли липидов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Строение прокровов эмбриональных личинок скребней *P. magnus* сходно с описанным у аканторов *Moniliformis dubius*, экспериментально освобожденных от эмбриональных оболочек (Wright, Lumsden, 1970). В обоих случаях личинки имеют на поверхности однотипно организованные шипики и ограничены многослойным покровным комплексом, пронизанным порами. Вместе с тем имеются и некоторые отличия. На поверхности акантора *M. dubius* выявлен прерывистый слой аморфного материала — гликокаликс, что связано с применением контрастирования диоксидом тория. Используемая нами методика не позволяет дифференцировать гликокаликс от содержимого полости внутренней эмбриональной оболочки. Для *M. dubius* характерна также более развитая по сравнению с найденной нами система канальцев в покровах личинки. Увеличение их количества и диаметра, вероятнее всего, вызвано предварительным освобождением аканторов от эмбриональных оболочек и может рассматриваться как связанное с этим морфологическое проявление повышенной функциональной активности покровов.

Покровный комплекс, имеющий сходное строение, отмечался у развивающихся личинок *P. minutus* (Butterworth, 1969), поздней акантеллы *Arhythmorhynchus petrochenkoi* и цистаканта *P. strumosoides* (Никишин, 1985, 1986), а также у ряда исследованных зрелых скребней (Nicholas, Mercer, 1965; Wright, Lumsden, 1968, 1969; Graeber, Storch, 1978, и др.). Морфологические изменения

покровов при дифференцировке скребней касаются главным образом надмембранной структуры — гликокаликса (эпикутикулы) и поверхностного слоя цитоплазмы, трансформирующегося в гиподерму. Это свидетельствует о том, что структура покровного комплекса скребней формируется на стадии эмбрионального развития и в дальнейшем не претерпевает существенных качественных изменений, а адаптация наиболее поверхностного отдела покрова к промежуточному и окончательному хозяевам обеспечивается в основном гликокаликсом, морфология которого различается у аканторов, цистакантов и зрелых скребней (Wright, Lumsden, 1968, 1970; Никишин, 1986). Не связано с дифференцировкой покровов и увеличение в онтогенезе количества и размеров канальцев в поверхностном слое цитоплазмы (гиподерме), поскольку при этом не наблюдается качественных перестроек собственно покровного комплекса (Butterworth, 1969). Этот признак является в сущности показателем функции, а не морфологической дифференцировки. Постоянство структуры покровного комплекса скребней на протяжении их постэмбрионального развития, по-видимому, является уникальным явлением среди паразитических червей, но не ясно, распространяется ли оно на его биохимическую организацию (антигенный, изоэнзимный составы).

Гранулы, депонированные в переднем полюсе исследованных аканторов, имеют секреторную природу. Они образуются в зонах Гольджи, расположенных в цитоплазме по границе передней и средней третей тела личинки, и первоначально выявляются в виде мелких пузырьков с зернистым содержимым. Сформированные секреторные гранулы по форме, организации содержимого, наличию светлых участков и отсутствию тенденции к слиянию отличаются от липидных капель, за которые они в отдельных случаях могут быть приняты. Непосредственная связь между поверхностным отделом синцития и содержащей секреторные гранулы цитоплазмой позволяет утверждать, что последняя представляет собой специализированную часть этого синцития, имеющего в своем составе, кроме секреторных, еще и покровные и мышечные элементы.

Учитывая существенное морфологическое сходство секрета в большинстве случаев, мы предлагаем рассматривать этот локус как «железу», хотя применение этого термина к части синцития весьма условно.

Секреторные элементы в виде желез проникновения характерны для личиночных стадий паразитических плоских червей (Erasmus, 1972; Lethbridge, 1980). У аканторов до сих пор железистые элементы описаны не были. Общепринятое мнение об их отсутствии у скребней основано прежде всего на недостаточной изученности эмбрионального развития этих гельминтов с применением электронной микроскопии. Однако в настоящее время нет оснований судить, насколько продукция секрета свойственна эмбрионам скребней других видов. Полученные нами данные об изменении структуры скребней *P. magnus* в течение их раннего постэмбрионального развития свидетельствуют, что у личинок, мигрировавших в полость тела промежуточного хозяина, секреторные гранулы и признаки их секреции отсутствуют. Этот факт, наряду со свойственной железистым элементам личинок гельминтов специализацией к инвазии хозяина, предполагает функциональную связь выявленного у аканторов *P. magnus* «железистого» образования с проникновением в промежуточного хозяина. Наиболее вероятно, что секреторные гранулы вместе с эмбриональными крючьями и шипиками обеспечивают миграцию акантора в организме промежуточного хозяина, как это допускается в отношении секрета желез проникновения, например, гексакантов цестод. Нельзя исключить, что секрет «железы» способствует освобождению акантора от эмбриональных оболочек в теле промежуточного хозяина, хотя, как было показано в экспериментах с *M. dubius*, ведущая роль в этом процессе принадлежит эмбриональным крючьям и движениям тела личинки (Edmonds, 1966; Wright, 1971).

Без выявления биохимических свойств секрета «железы» невозможно кон-

кретизировать его роль в процессе инвазии. Однако методически такой анализ весьма проблематичен из-за малого количества секрета. Достаточно напомнить, что механизм действия секрета желез проникновения гексакантов цестод, несмотря на специальные гистохимические и биохимические исследования, до сих пор окончательно не расшифрован (Lethbridge, 1980). Пока мы предлагаем распространить понятие «железа проникновения» на секреторные элементы аканторов, тем самым подчеркивая общность адаптаций паразитических червей к инвазии промежуточного хозяина путем сочетания механических (движения тела, использование эмбрионального вооружения) и химических воздействий со стороны паразита.

Список литературы

- Никишин В. П. Ультраструктура покровных тканей поздней акантеллы *Arhythmorhynchus petrochenkoi* (Acanthocephala: Polymorphidae) // Паразитология. 1985. Т. 19, вып. 5. С. 306—313.
- Никишин В. П. Тонкое строение стенки метасомы цистаканта скребня *Polymorphus strumosoides* (Acanthocephala: Polymorphidae) // Паразитология. 1986. Т. 20, вып. 6. С. 403—408.
- Никишин В. П. Ультраструктура эмбриональных оболочек большого утинового скребня // Паразитология. 1988. Т. 22, вып. 6. С. 100—103.
- Никишин В. П., Краснощеков Г. П. Микроморфология «центральной ядерной массы» аканторов скребней *Polymorphus magnus* // Цитология. 1986. Т. 28, вып. 11. С. 1261—1263.
- Bogits B. J. Cytochemistry of gastroduodenal autophagy following starvation in *Schistosoma mansoni* // J. Parasitology. 1975. Vol. 61. P. 237—248.
- Butterworth P. E. The development of body wall of *Polymorphus minutus* (Acanthocephala) in its intermediate host *Gammarus pulex* // Parasitology. 1969. Vol. 59. P. 373—388.
- Erasmus D. The biology of Trematodes. N. Y., 1972. P. 312.
- Edmonds S. J. Hatching of the eggs of *Moniliformis dubius* // Exp. Parasitol. 1966. Vol. 19. P. 216—226.
- Graeber K., Storch V. Elektronenmikroskopische und morphometrische Untersuchungen am Integument der Acanthocephala (Aschelminthes) // Z. Parasitenkd. 1978. Vol. 57. P. 121—135.
- Lethbridge R. E. The biology of the oncosphere of cyclophyllidean cestodes // Helm. abstr. 1980. Vol. 49, N 2. P. 61—72.
- Nicholas W. L., Mercer E. H. The ultrastructure of the tegument of *Moniliformis dubius* (Acanthocephala) // Quart. J. Microscop. Sci. 1965. Vol. 106. P. 137—146.
- Wright R. D. The egg envelopes of *Moniliformis dubius* // J. Parasitol. 1971. Vol. 57. P. 129—131.
- Wright R. D., Lumden R. D. Ultrastructural and histochemical properties of the acanthocephalan epicuticula // J. Parasitol. 1968. Vol. 54. P. 1111—1123.
- Wright R. D., Lumden R. D. Ultrastructure of the tegumentary pore canal system of the acanthocephalan *Moniliformis dubius* // J. Parasitol. 1969. Vol. 55. P. 993—1003.
- Wright R. D., Lumden R. D. The acantor tegument of *Moniliformis dubius* // J. Parasitol. 1970. Vol. 56. P. 727—735.

Институт биологических проблем Севера
ДВО АН СССР,
г. Магадан

Поступила 9.06.1988

ULTRASTRUCTURE OF ACANTHORS OF POLYMORPHUS MAGNUS (ACANTHOCEPHALA: POLYMORPHIDAE): INTEGUMENTS AND «PENETRATION GLAND»

V. P. Nikishin, G. P. Krasnoshchekov

SUMMARY

Ultrastructure of integuments of embryonal larva of *Polymorphus magnus* is first described. Larvae are covered with a multilayer integumental complex similar to that of acanthors of other species as well as to that of acanthellae, cystacanths and adult thorny-headed worms. Armature consists of embryonal hooks, located on the anterior body end, and spines covering the other part of the body. In the anterior part of larvae there was recognised a zone of production and storage of secretory granules which, by analogy to embryos of other parasitic worms, is described as a «penetration gland». Secretory granules alongside with other armature elements are supposed to participate in the intermediate host invasion.

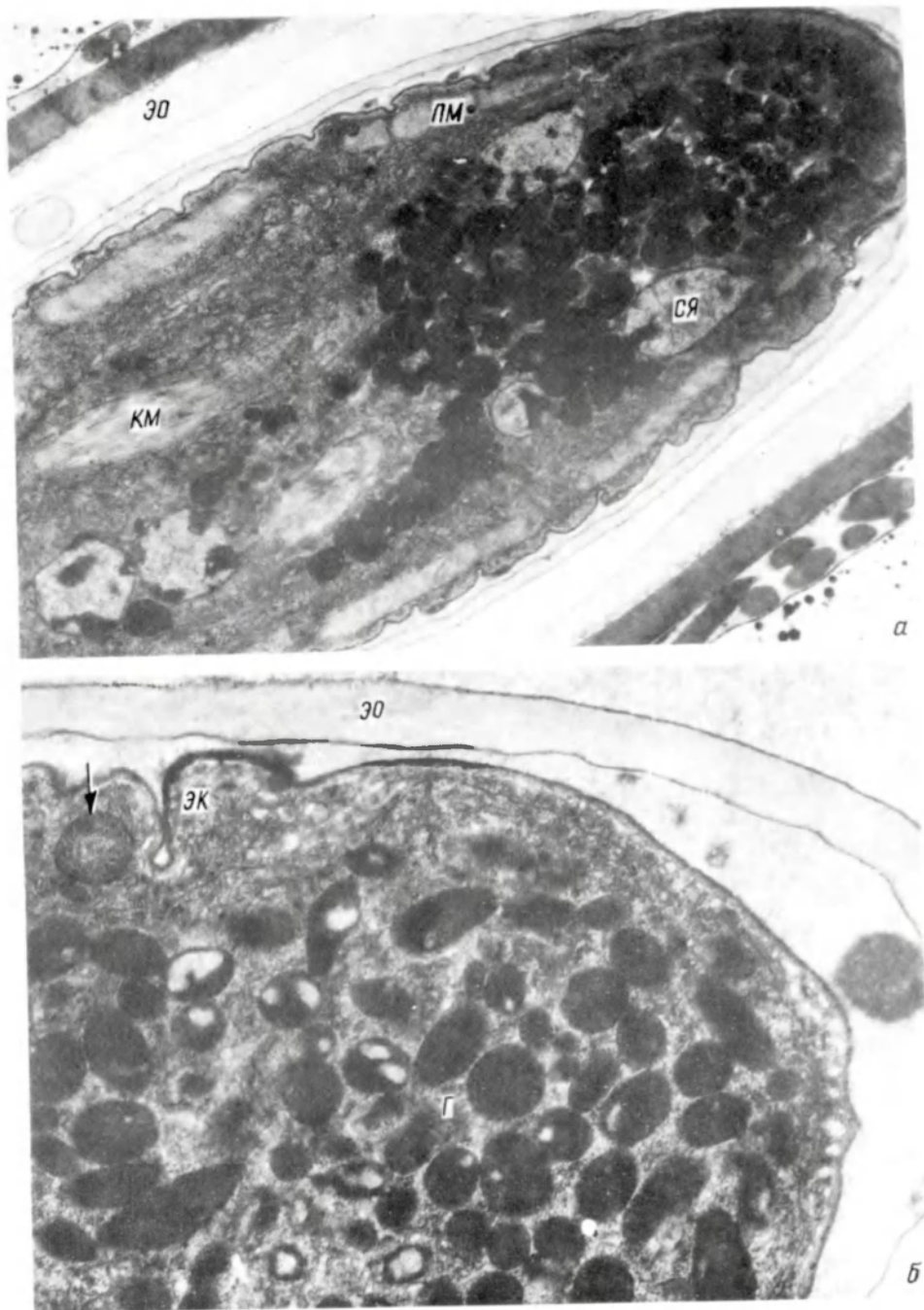


Рис. 2. Ультраструктура переднего отдела акантора *Polymorphus magnus*.

а — скопление секреторных гранул (тангенциальный срез); б — эмбриональный крючок и фрагмент скопления секреторных гранул. Увел.: а — 9500; б — 26 000. ЭО — эмбриональные оболочки.
Остальные обозначения такие же, как на рис. 1.

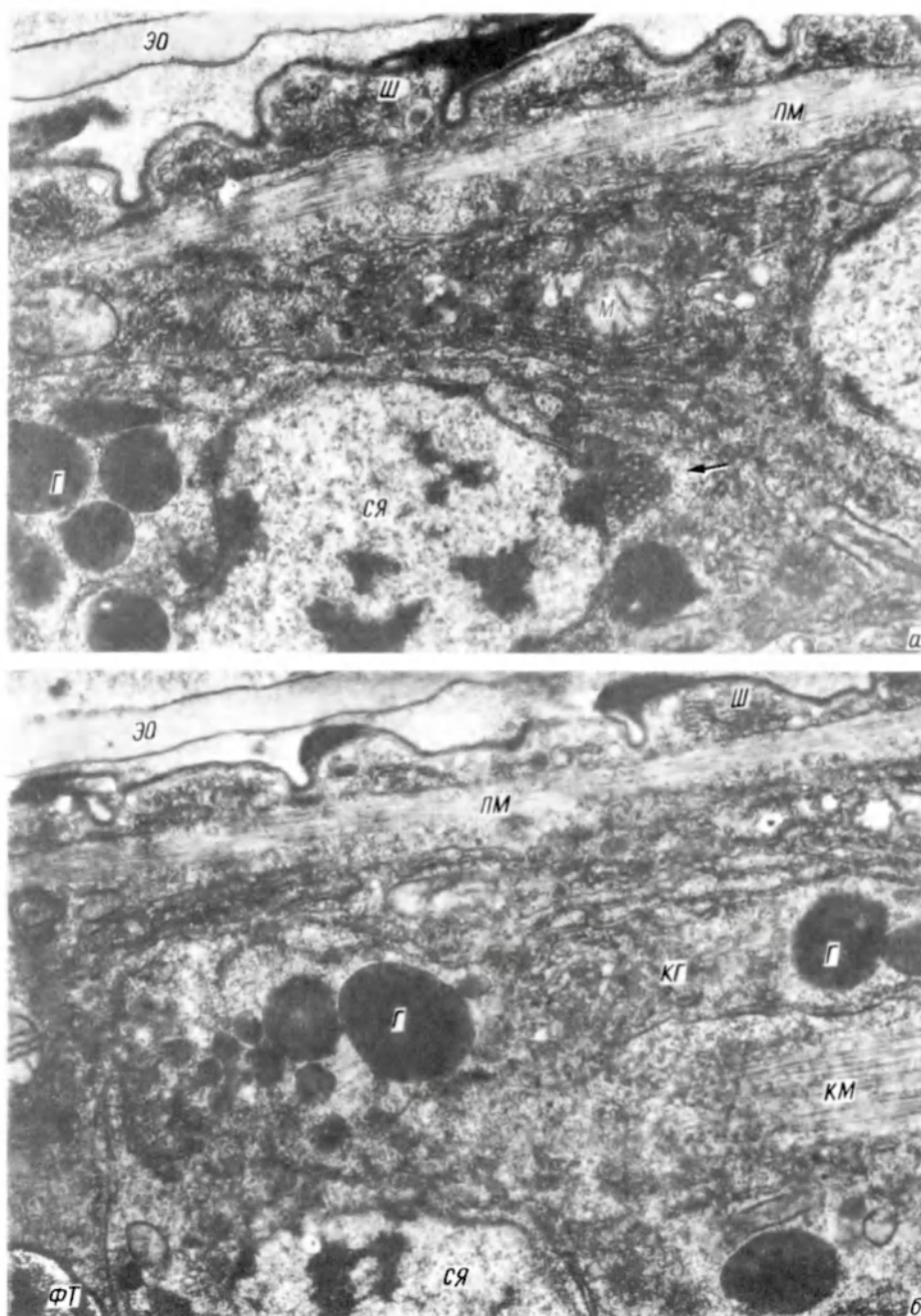


Рис. 3. Ультраструктура средней части акантора *Polymorphus magnus*.

а — цитоплазматическая организация участка личинки, прилегающего к скоплению секреторных гранул;
б — участок цитоплазмы с формирующимися секреторными гранулами. Увел.: *а* — 33 100; *б* — 26 600.
 КГ — комплекс Гольджи; М — митохондрии.
 Остальные обозначения такие же, как на рис. 1 и 2.